

MÈTODES ALTERNATIU ALS QUÍMICS, BASATS EN EXTRACTES VEGETALS RICS EN SILICI, EN LA LLUITA CONTRA ELS FONGS DE LA VINYA

UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

Àlex Martín Salamó

ANTECEDENTS

La indústria Catalana del vi representa una part important de l'agricultura i del sector alimentari de Catalunya. L'extensió de vinyes a Catalunya és de **més de 65.000 ha** [1], majoritàriament (70-75%) **Macabeu**, seguida de Xarel·lo i Parellada, raïms de varietats blanques utilitzats tant pel consum com per elaborar vi blanc i cava.

Les malalties dels vegetals poden estar causades per una gran varietat de factors abiòtics (ambientals) i biòtics (virus, bacteris, plantes paràsites, nematodes, etc) però **en la majoria de casos són causades per fongs**, que poden atacar totes les parts d'una planta i matar-la en relativament poc temps. En vinya, els fongs provoquen principalment deformacions i caiguda prematura de les fulles, però també poden infectar els sarments, necessaris per la propagació per esqueixos, i **danyar el raïm**, assecant-lo o fent caure el gra abans d'hora, provocant **una devaluació del seu preu** al mercat, així com el dels productes que en deriven [2] i [3].

La gran varietat de malalties que causen els fongs i la seva complexitat han portat al desenvolupament d'un **gran nombre d'estratègies** diverses per controlar-los, principalment basades en l'aplicació de **fungicides químics**, molts d'ells formulats amb coure (Cu). Tot i així, aquestes estratègies han esdevingut menys efectives i més restringides a causa de l'aparició d'inòculs de fongs amb elevada resistència i pels efectes ambientals negatius que deriven de l'ús repetitiu i a vegades indiscriminat d'aquests productes. Està àmpliament demostrat que els fungicides formulats amb metalls pesants tenen una gran efectivitat però també causen **greus problemes sobre la vegetació** [4]. El coure s'ha anat acumulant en excés en el sòl de moltes vinyes com a conseqüència de dècades del seu ús i és tòxic a elevades concentracions [5]. A més, cada cop hi ha major **demanda de productes agroquímics segurs** pel medi ambient degut al l'augment de sistemes d'agricultura alternatius que promouen la sostenibilitat i la producció de productes alimentaris sanitàriament segurs.

HIPÒTESI INICIAL, OBJECTIUS I EXPECTATIVES

Un dels **mètodes més innovadors** d'entre les estratègies de control alternatives que s'estan estudiant és l'ús d'**extractes vegetals amb un elevat contingut de silici** (Si). Les plantes tenen una capacitat d'acumular Si molt variable, amb rangs que van des del 0.1 al 10 % de Si en pes sec [6]. El Si, en forma d'àcid silícic, és polimeritzat dipositat en forma de doble capa en els espais immediatament per sota de la cutícula de les fulles [7].

S'han proposat **dos mecanismes** pels quals el Si pot incrementar la resistència davant les malalties [8].

-El **primer** està basat en la **doble capa** que forma el Si en les parets cel·lulars d'arrels, tiges i fulles que actua de **barrera física** impedit la penetració dels fongs i evitant els processos d'infecció.

-El **segon** es fonamenta en el fet que el Si actua com a **desencanent de la resposta hipersensible** en front als patògens en la planta.

Tenint en compte aquests antecedents, la **principal expectativa** d'aquest projecte és el d'**incorporar noves estratègies ecològiques de control fitosanitari preventiu** en el conreu de la vinya, basades en la capacitat del Si d'**augmentar la resistència** de les plantes davant la incidència de les malalties fúngiques i alhora intentar **millorar els nivells de substàncies antioxidants** amb efectes beneficiosos per la salut en els productes de consum directe com en els derivats d'aquest cultiu (vi i cava).

S'han escollit dos extractes vegetals: **Cua de cavall** (*Equisetum arvense*) i **Ortiga** (*Urtica dioica*) rics en Si i que aporten nutrients essencials (l'ortiga sobretot Fe). El nostre patosistema serà la varietat blanca de vinya **Macabeu** i el fong necrotròfic ***Botrytis cinerea***, que té una gran incidència en aquesta varietat de vinya.

Es treballarà amb el suport i la complicitat de l'empresa de tractaments bio-ecològics **Trabe S.A.**, interessats en els resultats que se'n poden extreure del projecte i en les aplicacions comercials que podrien tenir.

PLA DE TREBALL I METODOLOGIA

El projecte es divideix en cinc blocs de treball:

1. Avaluar *in vitro* l'activitat antifúngica dels extractes vegetals (extractes de Cua de cavall i extractes d'Ortiga).

1.1. **Activació i creixement del fong**. Aquest procés s'haurà d'anar repetint al llarg de tot el projecte per obtenir fongs en l'estat idoni per cada objectiu.

1.2. **Elaboració dels extractes vegetals**. Per diferents mètodes: infusió, decocció (a diferents temperatures) i maceració.

1.3. **Determinació de la concentració efectiva** dels extractes. Es mesurarà la inhibició del creixement del miceli del fong *Botrytis cinerea* Pers en medi de cultiu d'extracte de Malta (MEA) amb diferents concentracions de les substàncies fungicides i es determinarà la concentració efectiva que inhibeix un 50% aquest creixement (EC50).

2. Avaluar la capacitat del fong de produir micotoxines i determinar la seva virulència.

2.1. **Obtenció dels filtrats** del fong després de fer-los créixer durant 1-2 setmanes en un medi Czapeck-Dox modificat en agitació i a la foscor.

2.2. **Exposició de les fulles** de vinya a diferents dilucions de filtrat (1, 10, 25, 50, 75 i 100 %) durant 20h. Després es deixaran en aigua de 24 a 48h més. S'utilitzarà aigua i medi sense fong com a controls.

2.3. **Avaluació dels danys** a través de l'anàlisi d'imatge de la superfície foliar afectada. Es realitzaran rèpliques amb filtrats obtinguts de diferents cultius del mateix fong.

3. Determinar l'eficiència *in vivo* d'aquests extractes vegetals aplicant-los en plantes de vinya en hivernacle.

3.1. **Cultiu en hivernacle** de 50 plantes de vinya Macabeu a partir d'empelt en peu resistent a fil·loxera en pots de 4L de capacitat amb el substrat format per granit vermell, sorra de quars i torba en la proporció 3:2:2.

3.2. **Aplicació dels extractes vegetals** en planta en dues etapes i a les concentracions determinades en el Bloc 1: durant el creixement vegetatiu sobre fulles i posteriorment en la fructificació sobre raïm.

L'aplicació dels extractes es realitzarà a 2/3 de les plantes (1/3 ortiga i 1/3 cua de cavall) mentre que l'altre 1/3 serà tractat amb aigua (control).

3.3. **Inoculació del fong** amb dany de la superfície foliar de la meitat de les plantes tractades i no tractades amb extracte vegetal. L'altre meitat de plantes patiran la mateixa lesió que les inoculades però sense fong.

3.4. **Control dels símptomes** en fulles i raïm i recollida i congelació en nitrogen líquid del material tractat per anàlisis posteriors.

3.5. **Quantificar i identificar diferents substàncies d'interès**. S'analitzaran per diferents mètodes (utilitzant els protocols establerts) les concentracions de **fenols i flavonoides** en fulles i raïm, la presència i quantitat d'**hormones SA i JA** en fulles de plantes inoculades i no inoculades. També es farà un anàlisi foliar dels **minerals** per determinar diferències en els nivells de nutrients i de Si acumulat en les fulles tractades i no tractades amb els extractes vegetals. També ens permet avaluat l'efecte dels fongs en l'absorció de nutrients essencials de la planta. Per últim es farà la **detecció i localització de Si**.

4. **Aplicació en camp** dels extractes biològics preventius. En funció de la concentració efectiva dels dos extractes vegetals determinada en els diferents assajos realitzats en el laboratori i dels coneixements obtinguts de l'experiència en hivernacle, es procedirà a aplicar els dos extractes vegetals en vinyes situades en parcel·les agrícoles destinades a agricultura ecològica. Es farà un seguiment per controlar si hi ha aparició de simptomatologia relacionada amb els fongs o amb deficiències nutricionals en les plantes durant tot el cicle vital. Es repeteixen els mateixos subblocs que en l'apartat 3.

5. **Estudi dels productes resultants**. No podem oblidar que l'objectiu final del cultiu del raïm és la producció de vi. Per tant seria d'elevat interès la fermentació de mostres de raïm tant del cultiu en hivernacle com en camp i comparar gust, color, aroma, etc i estudiar la composició dels vins resultants de raïm tractat amb els diferents extractes i no tractat.

Es repetirà el procés en anys posteriors per obtenir resultats més determinants (variacions climàtiques) i en un futur es pretendria ampliar l'estudi a diferents varietats i amb altres fongs d'incidència habitual en la vinya.



Ortiga

Cua de cavall

CRONOGRAMA

	Gener	Febrer	Març	Abril	Maig	Juny	Juliol	Agost	Setembre	Octubre	Novembre	Desembre	Gener	Febrer	Març	Abril	Maig	Juny	Juliol	Agost	Setembre	Octubre	Novembre	Desembre
1-Estudi <i>in vitro</i> de l'activitat antifúngica dels extractes						1																		
2-Estudi <i>in vitro</i> de la toxicitat del fong						2																		
3-Aplicació en hivernacle				3.1				3.2		3.3	3.4	3.5												
4-Aplicació en camp													4.1							4.2		4.3	4.4	4.5
5-Estudi dels productes										5												5		

RESULTATS ESPERATS

Obtenir la concentració i elaboració òptimes de l'extracte vegetal ric en silici (cua de cavall o ortiga) ideal com a alternativa a la lluita química contra els fongs de la vinya.

Obtenir evidències del mecanisme d'actuació dels extractes sobre la planta i del mecanisme de la inhibició del fong per poder extrapolar els resultats a altres tipus de fong i de planta.

PLA DE DIFUSIÓ

Al tractar-se d'un projecte **vinculat estretament a una empresa** dedicada al mercat de l'agricultura ecològica, els resultats tindrien una senzella exportació al consum general per part d'agricultors i consumidors interessats en els cultius ecològics, tant a través de la **comercialització d'extractes vegetals** òptims per la lluita contra els fongs com a través de la **difusió dels nous coneixements** a través de les xarxes d'agricultors i consumidors.

BLOCS PRESSUPOSTARIS

El pressupost necessari per dur a terme aquest projecte podria estar dividit en tres apartats:

1. **Despeses de material fungible** de vidre i d'un sol ús i compra dels **reactius** necessaris, d'**hormones**, de les **plantes** empeltades d'un any d'edat i de la **soca** del fong.
2. Cost dels **anàlisis** de diferents components de les mostres que caldria subcontractar i dels **serveis externs** pel treball en camp.
3. Cost de la determinació de la **localització del silici** en fulla i de l'anàlisi de les **substàncies fenòliques**, paquets realitzats a la pròpia UAB.

REFERÈNCIES

1. Observatori de la Vinya, el Vi i el Cava, Informe juny 2011.
2. Luque J, Martos S, Aroca A, Raposo R, García-Figueroa F (2009) Symptoms and fungi associated with declining mature grapevine plants in northeast Spain. J. Plant Pathology 91: 381-390
3. Aroca A, Raposo R, Gramaje D, Armengol J, Martos S, Luque J (2008) First report of *Lasiodiplodia theobromae* associated with decline of grapevine rootstock mother plants in Spain. Plant Disease 92: 832
4. Poschenrieder C, Cabot C, Tolrà R, Lluqany M, Martos S, Gallego B, Barceló J (2011) Metal defense against biotic stress, is it real? Agrochimica, 55:29-44
5. Lluqany M, Lombini A, Poschenrieder C, Dinelli E, Barceló J (2003) Different mechanisms account for enhanced copper resistance in *Silene armeria* ecotypes from mine spoil and serpentine sites. Plant and Soil, 251: 55-63
6. Epstein E (1999) Silicon. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 50: 641-664
7. Fauteux F, Remus-Borel W, Menzies JG, Belanger RR, (2005) Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. FEMS Microbiol. Lett., 249: 1-6
8. Ma JF, Yamaji N (2006) Silicon uptake and accumulation in higher plants. Trends in Plant Science, 11(8):392-397